



**Instytut
Matki i Dziecka**

Zakład Genetyki Medycznej

dr n. med. Monika Ewa Gos

AUTOREFERAT

Warszawa 2019

- 1. Imię i nazwisko: Monika Ewa Gos**
- 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej**

2005 stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej, Centrum Onkologii-Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie z dn. 14.12.2005 (dyplom z wyróżnieniem)

Tytuł rozprawy doktorskiej: Częstość występowania polimorfizmów w wybranych genach związanych z metabolizmem androgenów u chorych na raka prostaty.

Promotor: prof. dr hab. Przemysław Janik (Centrum Onkologii, Warszawa)

Recenzenci: prof. dr hab. Małgorzata Maria Sąsiadek (Uniwersytet Medyczny im. Piastów śląskich, Wrocław), prof. dr hab. Zdzisław Krawczyk (Centrum Onkologii, Gliwice).

2001 tytuł magistra biologii (studia magisterskie dzienne, 5-letnie), specjalność: biologia molekularna; praca wykonana w Zakładzie Genetyki, Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego we współpracy z Zakładem Genetyki Medycznej Instytutu Matki i Dziecka, Warszawa (ocena bardzo dobra, dyplom z wyróżnieniem)

Tytuł pracy magisterskiej: Analiza mutacji w genach metabolizmu kwasu foliowego i wybranych genach regulatorowych w rodzinach z przypadkami wad cewy nerwowej.

Promotor: prof. dr hab. Ewa Bartnik (Zakład Genetyki, Wydział Biologii, UW)

Recenzenci: prof. dr hab. Piotr Stępień (Zakład Genetyki, Wydział Biologii, UW), prof. dr hab. Jacek Bielecki (Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, UW)

2010 dyplom Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (26/2010) uzyskania tytułu specjalisty w dziedzinie Laboratoryjnej genetyki medycznej.

2016 Certyfikat European Board of Medical Genetics nadający tytuł: European Clinical Laboratory Geneticist (focus on Molecular Genetics)

2011 Świadectwo ukończenia studiów podyplomowych: Zarządzanie projektami badawczymi, Uczelnia Łazarskiego, Warszawa

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Od 2009	Zakład Genetyki Medycznej, Instytut Matki i Dziecka w Warszawie Stanowisko: adiunkt, kierownik Pracowni Genetyki Rozwoju
2001-2009	Zakład Biologii Komórki, Centrum Onkologii-Instytut, Warszawa, Stanowisko: biolog – specjalista, asystent naukowy, adiunkt
11.2011-06.2012	Katedra i Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny Stanowisko: adiunkt - wykładowca

Stáže naukowe:

07-09.2012	Department of Human Genetics, McGill University and Genome Quebec Innovation Center, Montreal (Jacek Majewski Lab, Louise Larrose Lab)
10.2000-03.2001	Centre de Genetica Medica i Molecular, Institut de Recerca Oncologica, Barcelona, Hiszpania; program stypendialny Socrates – Erasmus

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.)

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

Szlak RAS/MAPK w etiopatogenezie zaburzeń rozwojowych, ze szczególnym uwzględnieniem zespołów wad wrodzonych z cechami dysmorfii i zaburzeniami wzrastania.

b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

Znakiem * oznaczono autorstwo równoważne.

Prace oryginalne

- 1) **Gos M**, Fahiminiya S, Poznański J, Kłapecki J, Obersztyn E, Piotrowicz M, Wierzba J, Posmyk R, Bal J, Majewski J. Contribution of RIT1 mutations to the pathogenesis of Noonan syndrome: four new cases and further evidence of heterogeneity. *Am J Med Genet A*. 2014 Sep;164A(9):2310-6. doi:10.1002/ajmg.a.36646.

IF: 2,159, MNiSW: 20, liczba cytowań: 18

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: analizie danych eksomowych, opracowaniu techniki analizy genu RIT1 i wykonaniu analizy molekularnej w grupie pacjentów z zespołem Noonan, edycji manuskryptu do publikacji – przygotowaniu ryciny i tabeli, zebraniu danych klinicznych, przygotowaniu dyskusji wyników na podstawie dostępnych danych literaturowych; autor korespondencyjny. Mój udział procentowy szacuję na 40%.

- 2) Yamamoto GL, Aguená M, **Gos M**, Hung C, Pilch J, Fahiminiya S, Abramowicz A, Cristian I, Buscarilli M, Naslavsky MS, Malaquias AC, Zatz M, Bodamer O, Majewski J, Jorge AA, Pereira AC, Kim CA, Passos-Bueno MR, Bertola DR. Rare variants in SOS2 and LZTR1 are associated with Noonan syndrome. *J Med Genet*. 2015 Jun;52(6):413-21. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103018.

IF: 5,650, MNiSW: 35, liczba cytowań: 55

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu badań molekularnych przed kwalifikacją pacjentów do sekwencjonowania eksomowego, analizie danych z analiz wysokoprzepustowych, analizie molekularnej u członków rodziny polskiego pacjenta oraz w odpowiednio dobranej grupie kontrolnej oraz dostarczeniu informacji niezbędnych do przygotowania ostatecznej wersji manuskryptu, aktywnym uczestnictwie w przygotowaniu tekstu do publikacji. Mój udział procentowy szacuję na 20%.

Opisy przypadków

- 3) **Gos M**, Smigiel R, Kaczan T, Landowska A, Abramowicz A, Sasiadek M, Bal J. MAP2K2 mutation as a cause of cardio-facio-cutaneous syndrome in an infant with a severe and fatal course of the disease. *Am J Med Genet A*. 2018 Jul;176(7):1670-1674. doi: 10.1002/ajmg.a.38837.

IF: 2,264, MNiSW: 20, liczba cytowań: brak

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz molekularnych, przygotowaniu tekstu i rycin do publikacji, przygotowaniu korekty manuskryptu po recenzjach, byłam kierownikiem projektu, z którego finansowane były badania, autor korespondencyjny. Mój udział procentowy szacuję na 40%.

- 4) Jeleń K, Śmigiel R, **Gos M**, Terpińska E, Królak-Olejnik B. Zespół Noonan u noworodka z przeważającymi objawami niewydolności oddechowej oraz kardiomiopatii przerostowej i nadciśnienia płucnego. *Ped Pol.* 2016; 91:275-278
IF: brak, MNiSW: 15, liczba cytowań: brak

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu techniki analizy genu RAF1 oraz wykonaniu i opracowaniu wyników badań molekularnych przeprowadzonych dla pacjenta, udziale w przygotowaniu manuskryptu poprzez konsultacje w zakresie zagadnień molekularnych, akceptacji końcowej wersji pracy. Mój udział procentowy szacuję na 25%.

Prace przeglądowe

- 5) **Gos M**. Epigenetic mechanisms of gene expression regulation in neurological diseases. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2013;73(1):19-37. Review.
IF: 2,244, MNiSW: 15; liczba cytowań: 23

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: na opracowaniu koncepcji pracy w oparciu o wyniki prowadzonych badań naukowych i diagnostycznych, przygotowaniu rycin i tabel, przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, przygotowaniu pracy do publikacji po otrzymaniu uwag recenzentów. Byłam także autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 100%.

- 6) Bezniakow N, **Gos M**, Obersztyn E. The RASopathies as an example of RAS/MAPK pathway disturbances - clinical presentation and molecular pathogenesis of selected syndromes. *Dev Period Med.* 2014 Jul-Sep;18(3):285-96. Review.
IF: brak, MNiSW: 7, liczba cytowań: 17

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: udziale w opracowaniu koncepcji pracy, przygotowaniu opisów dotyczących podłoża molekularnego choroby, przygotowaniu tabeli nr 1 i ryciny nr 1 oraz akceptacji końcowej wersji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 30%.

- 7) Kutkowska-Kaźmierczak A, **Gos M**, Obersztyn E. Craniosynostosis as a clinical and diagnostic problem: molecular pathology and genetic counseling. *J Appl Genet.* 2018 May;59(2):133-147. doi: 10.1007/s13353-017-0423-4. Erratum in: *J Appl Genet.* 2018 Mar 16;
IF: 1,756, MNiSW: 20, liczba cytowań: 2

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: współudziale w opracowaniu koncepcji pracy, przygotowaniu opisów dotyczących podłoża molekularnego choroby, edycji pierwotnej wersji manuskryptu, przygotowaniu tabeli nr 1 i rycin 1-3 oraz akceptacji końcowej wersji pracy. Mój udział procentowy szacuję na 40%.

- 8) Abramowicz A, **Gos M**. Neurofibromina – budowa i funkcje białka w kontekście patogenezy nerwiakowłókniakowatości typu I. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2015 Dec 9;69:1331-48.
IF: 0,769, MNiSW: 15, liczba cytowań: 1

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: współopracowaniu koncepcji pracy, merytorycznym nadzorze nad przygotowaniem pracy, ostatecznym przygotowaniu manuskryptu do publikacji, w tym przygotowaniu rycin 2-5, 7 i 9, przygotowaniu korekty artykułu po uwagach recenzentów. Byłam także autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 50%.

- 9) Abramowicz A, **Gos M.** Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation. J Appl Genet. 2018 Aug;59(3):253-268. doi: 10.1007/s13353-018-0444-7. Epub 2018 Apr 21. Review.
IF: 1,756, MNiSW: 20; liczba cytowań: 5

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: współpracowaniu koncepcji pracy, merytorycznym nadzorze nad przygotowaniem pracy, ostatecznym przygotowaniu manuskryptu do publikacji, przygotowaniu korekty artykułu po uwagach recenzentów. Byłam także autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 50%.

Monografia

- 10) Kłapecki J*, **Gos M***, Obersztyn E, Mazurczak T. Zespół Noonan - etiopatogeneza, dziedziczenie, diagnostyka i leczenie; Instytut Matki i Dziecka. Warszawa 2015, ISBN 978-83-62182-51-0
Tytuł roboczy publikacji: Zespół Noonan - etiopatogeneza, dziedziczenie, różnicowanie kliniczne, poradnictwo genetyczne, diagnostyka i leczenie.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: współpracowaniu koncepcji pracy, przygotowaniu rozdziałów dotyczących patogenezy i diagnostyki molekularnej choroby, opracowaniu rycin i tabeli, nadzorze nad przygotowaniem końcowej wersji monografii oraz akceptacji końcowych poprawek i przygotowanej szaty graficznej monografii. Mój udział procentowy szacuję na 35%.

Dane bibliometryczne prac wchodzących w skład doniesienia naukowego

IF = 16,598

Punktacja MNISW = 167

Indeks cytowań = 121

c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wady wrodzone, określane także jako wady rozwojowe, powstają w wyniku zaburzeń prawidłowego rozwoju tkanki, narządu lub całego organizmu, w okresie życia płodowego. Wśród mechanizmów patogenetycznych ich powstawania wyróżnia się: deformacje, przerwania, dysplazje i malformacje [1]. Wady wrodzone stanowią jedną z głównych przyczyn samoistnych poronień (10-15%; do 50% w późniejszym okresie ciąży) i zgonów niemowląt (ok. 20%). Jednocześnie stanowią najczęstszą przyczynę wystąpienia niepełnosprawności u dzieci. Wiele wad rozwojowych rozpoznawanych jest dopiero po urodzeniu, zaś dzieci nimi dotknięte wymagają wielospecjalistycznej opieki medycznej.

Wady wrodzone możemy zaklasyfikować jako wady duże, które znacząco wpływają na ogólny stan chorego i nierzadko prowadzą do jego zgonu (tzw. wady letalne) i wady małe, które nie mają istotnego wpływu na zdrowie pacjenta. Wśród małych wad wrodzonych (małych anomalii rozwojowych) znajdują się tzw. cechy dysmorficzne, dotyczące najczęściej budowy, rozmiaru i/lub położenia poszczególnych elementów twarzoczaszki. W większości przypadków przyczyna wystąpienia wad rozwojowych pozostaje nieznana - uważa się, że czynnik genetyczny odgrywa znaczącą rolę w około 35% przypadków wad wrodzonych. Zazwyczaj wady wrodzone występują jako cecha izolowana, której nie towarzyszą inne anomalie rozwojowe. W większości przypadków są one uwarunkowane wieloczynnikowo (20-25%, predyspozycja genetyczna i czynnik środowiskowy). Znacznie rzadziej wady wrodzone występują jako tzw. wady mnogie, czyli kombinacja dużych i/lub małych anomalii rozwojowych, która może mieć charakter losowy lub stały. W drugim przypadku na podstawie obserwowanego zestawu określonych zaburzeń rozwojowych można określić specyficzny fenotyp tzw. zespół wad wrodzonych¹ [1,2].

Przyczyną wystąpienia zespołów wad wrodzonych są zazwyczaj zmiany genetyczne: aberracje chromosomowe, o charakterze liczbowym lub strukturalnym (6-7% przypadków wad wrodzonych) lub mutacje w określonych genach (tzw. zespoły monogenowe; 7-8% przypadków wad wrodzonych) [2]. Niewielki odsetek zespołów wad wrodzonych mogą być także zaburzenia regulacji epigenetycznej, w tym zaburzenia rodzicielskiego piętnowania genomowego, co zostało szerzej omówione w pracy: ***Epigenetic mechanisms of gene expression regulation in neurological diseases*** (2013, Gos M, Zał. 3, Pkt I B-5). Do chwili obecnej opisano >1000 zespołów wad wrodzonych, dla których znane jest podłoże genetyczne. W przypadku chorób monogenowych obecność mutacji w określonym genie prowadzi do zmiany właściwości lub poziomu białka kodowanego przez dany gen, co z kolei wpływa na homeostazę komórki, w tym prawidłowe funkcjonowanie wewnątrzkomórkowych szlaków transdukcji sygnału. Ich odpowiednia aktywność niezbędna jest dla prawidłowego przebiegu procesów komórkowych takich jak: proliferacja, wzrost, migracja, śmierć (apoptoza) czy różnicowanie, które kluczowe są dla procesów rozwojowych dotyczących poszczególnych tkanek, narządów czy całego organizmu. Przykładem szlaku zaangażowanego w powyższe procesy jest szlak RAS/MAPK, którego zmieniona aktywność jest przyczyną występowania nie tylko zaburzeń rozwojowych, lecz również rozwoju nowotworów.

Szlak RAS/MAPK, omówiony szczegółowo w pracy ***Ścieżka sygnałowa RAS/MAPK i jej rola w etiopatogenezie zespołu Noonan*** (2012, Gos M, Leszkiewicz M, Abramowicz A; Zał. 3, Pkt. II D-15, publikacja niewchodząca w skład osiągnięcia naukowego), jest pobudzany w odpowiedzi na działanie czynników zewnętrznych, głównie czynników wzrostowych. Czynniki te przyłączają się do receptorów błonowych, które ulegają aktywacji i autofosforylacji, co powoduje przyłączenie białek adaptorowych,

¹ Mnogie wady rozwojowe mogą występować również jako: skojarzenia, sekwencje i kompleksy wad.

takich jak SHP2 (PTPN11), GRB2, CBL i białka z rodziny SOS. W wyniku tych interakcji struktura białka SOS ulega zmianie, co umożliwia jego oddziaływanie z białkiem RAS. Prowadzi to do aktywacji białka RAS (dzięki wymianie GDP związanego w centrum aktywnym białka na GTP), a w konsekwencji jego efektorowych szlaków sygnałowych, w tym kaskady kinaz aktywowanych działaniem czynników mitogennych (MAPK) i kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K). W szlaku kinaz serynowo-treoninowych aktywowanych działaniem czynników mitogennych pierwszymi aktywowanymi kinazami są kinazy kinaz MAP (MAP3K), znane jako białka RAF. Aktywują one kinazy kinaz MAP (MAP2K), określane także jako białka MEK (ang. MAPK/ERK Kinases). Te z kolei fosforylują białka efektorowe szlaku – kinazy MAP, opisywane jako białka ERK. Odpowiedzialne są one za fosforylację czynników transkrypcyjnych aktywujących ekspresję określonych genów, których produkty są zaangażowane w regulację przeżycia, proliferacji, migracji i różnicowania się komórek.

W kontekście rozwoju organizmu prawidłowa aktywność szlaku RAS/MAPK jest niezbędna dla: poprawnego wzrastania i właściwego rozwoju układu kostno-szkieletowego, w tym kości twarzoczaszki (różnicowanie osteoblastów) i prawidłowego rozwoju serca (m.in. tworzenie poduszek serca i rozwój zastawek). Szlak jest także zaangażowany w rozwój układu nerwowego (tworzenie kolców dendrytycznych), synaptogenezę, a tym samym jest kluczowy dla procesów uczenia się i kształtowania pamięci, a zmiana jego aktywności może skutkować zaburzeniami neurorozwojowymi. **Celem naukowym badań będących podstawą mojego autoreferatu była identyfikacja i charakterystyka defektów genetycznych dotyczących szlaku RAS/MAPK w kontekście wystąpienia zaburzeń rozwojowych, ze szczególnym uwzględnieniem zespołów wad wrodzonych z cechami dysmorfii i zaburzeniami wzrastania.**

Zespoły wad wrodzonych, których przyczyną są zaburzenia aktywności szlaku RAS/MAPK będące efektem obecności mutacji germinalnych, są określane mianem RASopatii i stanowią grupę chorób o wysokiej zmienności klinicznej, która sprawia, że stanowią one duże wyzwanie diagnostyczne. Przykładem choroby z grupy RASopatii jest zespół Noonan, będący jednym z częściej występujących zespołów wad wrodzonych o częstości występowania na 1/1000 do 1/2500 wśród żywo urodzonych noworodków. Badania nad tym zespołem rozpoczęłam w roku 2009 i prowadziłam je w ramach projektu naukowego: *Zmienność molekularna genów szlaku RAS-MAPK a ekspresja fenotypowa zespołu Noonan*, a następnie kontynuowałam w ramach projektu własnego *Identyfikacja nowych genów związanych z patogenezą zespołu Noonan - analiza funkcjonalna zidentyfikowanych zmian w kontekście aktywności ścieżki RAS/MAPK* (Zał. 3, Pkt II-I). Efektem tych prac było powstanie pierwszej na polskim rynku monografii dotyczącej tego zespołu zatytułowanej „**Zespół Noonan - etiopatogeneza, dziedziczenie, diagnostyka i leczenie**” (2015, Klapecki J, Gos M, Obersztyn E, Mazurczak T. Zał. 3, Pkt I B-10) oraz szeregu prac, omówionych poniżej, dotyczących zmienności klinicznej i heterogenności podłoża molekularnego tego zespołu oraz innych chorób z grupy RASopatii.

Zespół Noonan (Noonan syndrome – NS, dziedziczenie autosomalne dominujące) charakteryzuje się specyficznym spektrum objawów klinicznych, którym towarzyszą charakterystyczne cechy dysmorfii. Do najczęściej spotykanych u chorych objawów należą: 1) niskorosłość (58,9%), która zazwyczaj rozwija się po urodzeniu; opóźnienie wzrastania wewnątrzmacicznego stwierdzone jest jedynie u 11,7% pacjentów; 2) wady wrodzone serca, w tym zwężenie zastawki tętnicy płucnej (52,1%), ubytki w przegrodzie międzykomorowej (10,7%) i międzyprzedsionkowej (29,4%) oraz kardiomiopatia przerostowa (14,9%); 3) wady układu kostno-szkieletowego, w tym deformacje klatki piersiowej tzw. klatka piersiowa szewska (47,3%) lub kurza (9,66%); 4) opóźnienie rozwoju psychoruchowego (41,4%), opóźnienie rozwoju mowy (28,3%), zaburzenia zachowania (11,2%); 5) wady układu moczowo-

płciowego np. wewnątrzostwo u chłopców (69,4%); 6) zaburzenia hematologiczne - zaburzenia krzepnięcia krwi, skłonność do powstawania wybroczyn (34,0%); 7) zaburzenia limfatyczne – uogólniony obrzęk limfatyczny (9,77%) na etapie życia płodowego, w okresie postnatalnym obrzęk dłoni i stóp oraz opuszki płodowe palców (32,6%); 8) zmiany skórne np. plamy w kolorze kawy z mlekiem (11,9%). Wśród charakterystycznych cech dysmorfii stwierdza się: skośne ku dołowi ustawienie szpar powiekowych (74,6%), hiperteloryzm (72,9%), oczy z pogrubiałymi powiekami (51,8%), nisko osadzone (77,2%), odstające (51,8%) małżowiny uszne z pogrubiałym obrąbkiem (80,8%), trójkątny kształt twarzy (42,5%), wysokie czoło (69,3%), krótka (80,3%), szeroka (58,2%) szyja, płetwistość szyi (40,0%) oraz szerokie rozstawienie brodawek sutkowych (60,2%).

Przytoczone powyżej częstości występowania poszczególnych cech są wynikiem analizy kohorty 195 polskich pacjentów przeprowadzonej w ramach badań prowadzonych w ZGM IMiD w latach 2002-2018 i zostały dokładniej omówione w cytowanej już monografii: **Zespół Noonan - etiopatogeneza, dziedziczenie, diagnostyka i leczenie** (2015, Kłapecki J, Gos M, Obersztyn E, Mazurczak T. Zał.3, Pkt I B-10). Cechy kliniczne zespołu Noonan nie są patognomoniczne – mogą występować w przebiegu innych zespołów wad wrodzonych, które należy wziąć pod uwagę w diagnostyce różnicowej choroby. Podobne objawy kliniczne obserwuje się w zespole LEOPARD, aktualnie opisywanym jako zespół Noonan z plamami soczewicowatymi, zespole Noonan z włosami anagenowymi, zespole sercowo-twarzowo-skońnym (CFCS), zespole Costello (CS) czy zespole nerwiakowłókniakowatość-zespół Noonan (NFNS), które zostały omówione w pracy **The RASopathies as an example of RAS/MAPK pathway disturbances - clinical presentation and molecular pathogenesis of selected syndromes** (2014, Beznikow N, Gos M, Obersztyn E. Zał.3, Pkt I B-6), przygotowanej przeze mnie we współpracy z zespołem Poradni Genetycznej ZGM IMiD. Znaczne podobieństwo fenotypowe wymienionych jednostek klinicznych wynika z tego, że mutacje za nie odpowiedzialne identyfikowane są w genach kodujących białka będące elementami szlaku sygnałowego RAS/MAPK.

Zespół Noonan jest modelowym przykładem choroby, która wykazuje znaczącą heterogenność genetyczną, którą obserwujemy także w przypadku innych chorób z grupy RASopatii (np. CFCS). Oznacza to, że ten sam fenotyp może być efektem obecności mutacji w różnych genach – do chwili obecnej w kontekście patogenezy NS opisano ich 20. W większości przypadków opisane mutacje to substytucje powodujące zmianę aminokwasową, która powoduje zwiększenie aktywności białka lub sprawia, że białko przyjmuje na stałe konformację aktywną czy staje się mniej wrażliwe na działanie negatywnych regulatorów szlaku RAS/MAPK.

Pierwszym genem, którego mutacje powiązano z patogenezą zespołu Noonan, był gen *PTPN11*, jednak dalsze badania wykazały, że jego mutacje stwierdzone są jedynie u około 50% pacjentów z rozpoznaniem klinicznym tej choroby. Intensywna analiza genów kandydujących, kodujących inne białka szlaku RAS/MAPK, umożliwiła identyfikację mutacji w genach: *SOS1*, *RAF1*, *KRAS* i *NRAS*, jednak badania kohort pacjentów wykazały, że mimo zwiększenia zakresu analizy, w dalszym ciągu około 25% pacjentów z objawami klinicznymi zespołu Noonan pozostaje bez określonego defektu molekularnego. Momentem przełomowym w badaniach patogenezy zespołu Noonan okazało się wdrożenie sekwencjonowania następnej generacji i analizy eksomu. W ciągu ostatnich lat dzięki zastosowaniu tej techniki opisano szereg nowych genów związanych z patogenezą zespołu Noonan.

Również moje badania prowadzone we współpracy z Department of Human Genetics, McGill University and Genome Quebec Innovation Centre (Montreal, Kanada) miały na celu identyfikację nowych genów związanych z patogenezą choroby. Sekwencjonowanie eksomu przeprowadzono dla 42 pacjentów, z wykluczoną mutacją w genach *PTPN11*, *SOS1* i *RAF1*, zaś analizę danych w pierwszej kolejności przeprowadzono w kierunku identyfikacji wariantów patogennych / potencjalnie patogennych w znanych genach związanych z patogenezą RASopatii. U 7 (16.7%) pacjentów zidentyfikowano znane mutacje w genach: *BRAF* (2 pacjentów), *SHOC2* (2), *NF1* (2) i *KRAS* (1). W prawie wszystkich przypadkach (6/7), zidentyfikowane mutacje miały charakter *de novo*. Ponowna ocena kliniczna Badanych wykazała, ich fenotyp odpowiada obrazowi choroby u pacjentów z mutacjami w tych genach.

Rozszerzona analiza danych eksomowych umożliwiła powiązanie zespołu Noonan z mutacjami w genie *RIT1*, zaś wyniki badań zostały przedstawione w pracy ***Contribution of RIT1 mutations to the pathogenesis of Noonan syndrome: four new cases and further evidence of heterogeneity*** (2014, Gos M, Fahiminiya S, Poznański J, Klapecki J, Obersztyn E, Piotrowicz M, Wierzba J, Posmyk R, Bal J, Majewski J. Zał.3, Pkt I B-1). Analiza polskiej kohorty pacjentów wykazała, że częstość występowania mutacji w genie *RIT1* wynosi 3,8% (4/106 pacjentów) i jest niższa niż w innych badanych populacjach (9%) [3]. Tym niemniej mutacje w genie *RIT1* stanowią istotną przyczynę wystąpienia zespołu Noonan i identyfikuje się je częściej niż mutacje w genach: *KRAS*, *BRAF* i *NRAS*.

U polskich pacjentów w genie *RIT1* zidentyfikowano 3 mutacje: p.Phe82Val, p.Met90Ile i p.Gly95Ala, wszystkie zlokalizowane w obrębie domeny wiążącej GDP/GTP, w regionie konserwowanym ewolucyjnie. Ważnym elementem naszych badań było modelowanie struktury białka, które wykazało, że mutacje dotyczą aminokwasów zaangażowanych w oddziaływania hydrofobowe stabilizujące jego strukturę. Zgodnie z przeprowadzoną analizą, zidentyfikowane zmiany aminokwasowe nie będą znacząco wpływać na całą strukturę białka, a jedynie na miejscową stabilność jego struktury i/lub jego wewnętrzną dynamikę, co może powodować ewentualne zmiany aktywności katalitycznej białka *RIT1*.

Przeprowadzona przez nas na szczegółową charakterystykę kliniczną pacjentów z mutacjami w genie *RIT1* wykazała, że u 2/4 (50%) z nich występuje kardiomiopatia przerostowa. Badana grupa była zbyt mała, aby uzyskać wyniki statystycznie znaczące, jednak obserwacja ta jest zgodna z wynikami badań nad korelacją genotypowo-fenotypową wykonanymi dla większych kohort pacjentów [3,4]. Przekłada się to na możliwość ukierunkowania diagnostyki molekularnej w przypadku obecności specyficznych objawów klinicznych, takich jak kardiomiopatia przerostowa.

Nowym, zidentyfikowanym w trakcie prowadzonych badań, genem związanym z patogenezą zespołu Noonan był gen *LZTR1*. U jednego z kohorty badanych pacjentów występował potencjalnie patogenny wariant p.Ser274Asn w tym genie, który jak wykazała analiza kosegregacji został odziedziczony od objawowej matki, co wskazuje na autosomalnie dominujący tok dziedziczenia mutacji. Wariant ten nie był wcześniej opisany w populacjach kontrolnych, zaś analiza patogenności *in silico* wskazywała na potencjalnie patogenny charakter zidentyfikowanego wariantu. W ramach współpracy nawiązanej z Unidade de Genetica, Faculdade de Medicina da Universidade de Sao Paulo, udało się zebrać i opublikować wyniki badań dla 13 pacjentów (5 rodzin) ze zmianami w genie *LZTR1*. Praca ***Rare variants in SOS2 and LZTR1 are associated with Noonan syndrome*** (2015, Yamamoto GL, Agueno M, Gos M, Hung C, Pilch J, Fahiminiya S, Abramowicz A, Cristian I, Buscarilli M, Naslavsky MS, Malaquias AC, Zatz M, Bodamer O, Majewski J, Jorge AA, Pereira AC, Kim CA, Passos-Bueno MR, Bertola

DR. Zał.3, Pkt I B-2) była pierwszym doniesieniem wiążącym gen *LZTR1* z patogenezą RASopatii. Wszyscy opisani pacjenci mieli cechy dysmorfii typowe dla zespołu Noonan, u większości stwierdzono także wady serca (m.in. zwężenie zastawki tętnicy płucnej, zaburzenia funkcji zastawki mitralnej). Jedynie niektórych stwierdzono niskorosłość, równie rzadko występowało opóźnienie rozwoju psychoruchowego czy zaburzenia ektodermalne.

Gen *LZTR1* koduje cytoplazmatyczne białko LZTR1 (leucine-zipper-like transcriptional regulator 1) biorące udział m.in. w regulacji aktywności szlaku RAS/MAPK. Białko to oddziałuje z kuliną 3, która uczestniczy w tworzeniu kompleksu białkowego odpowiedzialnego za degradację białek (m.in. RAS) zależną od ubiquitynacji. Mutacje w genie *LZTR1* identyfikowane u pacjentów z zespołem Noonan, nie zaburzają oddziaływania białka LZTR1 z kuliną 3. Mogą natomiast wpływać na wiązanie się białek przeznaczonych do degradacji do kompleksu LZTR1 – kulina 3 – ligazy ubiquitynowe. W kontekście szlaku RAS/MAPK oznacza to zwiększenie puli komórkowego białka RAS, a tym samym zwiększoną aktywację szlaku [5].

Jak wspomniano, zespół Noonan jest chorobą o zmiennej ekspresji klinicznej, a jej przebieg zależy m.in. od stanu ogólnego pacjenta oraz obecności dużych wad wrodzonych takich jak wady serca, które zwiększają ryzyko zgonu pacjenta. Zgodnie z wynikami badania CARNET współczynnik zgonów w populacji pacjentów z zespołem Noonan wynosi 0,28/100 pacjentów / rok, zaś skumulowany współczynnik przeżycia odpowiednio 98,8% i 94,3% dla wieku 1 i 20 lat [6]. Wyższe ryzyko zgonu dotyczyło głównie pacjentów, u których stwierdzono kardiomiopatię przerostową przed ukończeniem 2 roku życia. Przypadek takiego pacjenta został opisany w publikacji **Zespół Noonan u noworodka z przeważającymi objawami niewydolności oddechowej oraz kardiomiopatii przerostowej i nadciśnienia płucnego** (2016, Jeleń K, Śmigiel R, Gos M, Terpińska E, Królak-Olejnik B. Zał.3, Pkt I B-4). Praca dotyczy przypadku noworodka płci żeńskiej urodzonego przedwcześnie (32 tydzień) z ciąży powikłanej wielowodniem i zmarłego w 21 dobie życia z powodu niewydolności krążeniowo-oddechowej. U dziecka stwierdzono obecność cech dysmorfii specyficznych dla RASopatii oraz obecność m.in. kardiomiopatii przerostowej. Rozpoznanie kliniczne zespołu Noonan u dziewczynki potwierdzono badaniami molekularnymi, wykazując obecność heterozygotycznej mutacji p.Ser257Leu w genie *RAF1*.

Należy podkreślić, że w okresie noworodkowym lub wczesnym dzieciństwie, rozpoznanie konkretnego zespołu z grupy RASopatii, tylko na podstawie objawów klinicznych bywa niezwykle trudne. Z taką sytuacją mieliśmy do czynienia w przypadku opisanym w pracy **MAP2K2 mutation as a cause of cardio-facio-cutaneous syndrome in an infant with a severe and fatal course of the disease** (2018, Gos M, Smigiel R, Kaczan T, Landowska A, Abramowicz A, Sasiadek M, Bal J. Zał.3, Pkt I B-3). U dziewczynki postawiono rozpoznanie choroby z grupy RASopatii, biorąc pod uwagę obecność obrzęku uogólnionego, specyficznych cech dysmorfii i wady serca pod postacią zwężenia zastawki tętnicy płucnej. Ze względu na częstsze występowanie zespołu Noonan, w pierwszej kolejności wykluczono obecność mutacji w genie *PTPN11*. Następnie ze względu na utrzymującą się hypotonię oraz obecność zmian skórnych (m.in. rogowacenia mieszkowego), charakterystycznych dla pacjentów z zespołem CFC, rozszerzono zakres badań molekularnych i zidentyfikowano mutację typu missens p.Phe57Ile w genie *MAP2K2*. Uzyskany wynik stanowił potwierdzenie rozpoznania klinicznego zespołu sercowo-twarzowo-skórnego u dziewczynki. Omawiany przypadek jest o tyle interesujący, że potwierdza szerokie spektrum objawów oraz podobieństwo fenotypowe w obrębie jednej grupy chorób jak np. RASopatie, czego wynikiem może być błędna diagnoza kliniczna na wczesnym etapie rozwoju.

Objawem, który na wczesnym etapie sugerował rozpoznanie kliniczne zespołu Noonan, była zwiększona przezierność karkowa u płodu z prawidłowym kariotypem stwierdzona w badaniu USG wykonanym w 13 tygodniu ciąży. Objaw ten występuje zdecydowanie częściej u pacjentów z zespołem Noonan (35-50%) niż z zespołem CFC czy Costello (odpowiednio 13% i 2-5%), w przeciwieństwie do wielowodzia, które częściej stwierdza się w CFCS (67-89%) niż w NS (38-57%). Ze względu na fakt występowania charakterystycznych zaburzeń rozwojowych w okresie prenatalnym w przebiegu RASopatii, w niektórych krajach prowadzi się badania w kierunku identyfikacji defektu molekularnego u płodów ze zwiększoną przeziernością karkową i przynajmniej jednym z następujących objawów: wielowodzie, uogólniony obrzęk płodu, obrzęk opłucnej, wady nerek, wodobrzusze, wady serca lub naczyniaki limfatyczne szyi (cystic hygroma). Szacuje się, że u 9-17% płodów z tego typu wadami i prawidłowym wynikiem analizy kariotypu metodą rutynową lub metodą porównawczej hybrydyzacji genomowej do mikromacierzy występuje mutacja w genach związanych z patogenezą RASopatii [7]. Badania nad tym zagadnieniem rozpoczęłam w ramach projektu własnego IMiD: *Prenatalna diagnostyka zespołu Noonan u płodów z patologią w badaniach USG z zastosowaniem metody NGS - badanie pilotażowe*. W badanej dotychczas grupie, w 27% (3/11) przypadków stwierdzono obecność mutacji w genie *PTPN11*, w pozostałych, mimo analizy panelu genów związanych z patogenezą RASopatii, nie zidentyfikowano podłoża zaburzeń.

Heterogenność kliniczna w RASopatiach może się także objawiać obecnością objawów, które nie są typowe dla chorób z tej grupy. Przykładem są zaburzenia zarastania szwów czaszkowych (kraniosynostozy), których obecność stwierdziliśmy u 3 pacjentów (2 z mutacją w genie *KRAS*, 1 – *PTPN11*) ze 195-osobowej kohorty pacjentów z zespołem Noonan. Kraniosynostozy uwarunkowane monogenowo są spowodowane m.in. przez mutacje genów z rodziny *FGFR* (*FGFR1* - zespół Pfeiffera typ I, *FGFR2* – zespół Pfeiffera/Crouzona, zespół Aperta, *FGFR3* – zespół Muenke), które kodują receptory dla czynnika wzrostu fibroblastów (FGF). Receptory te w odpowiedzi na obecność FGF w przestrzeni zewnątrzkomórkowej aktywują szlaki przekazywania sygnału w komórce m.in. szlak RAS/MAPK, co tłumaczy prawdopodobną przyczynę wystąpienia zaburzeń zarastania szwów czaszkowych u pacjentów z RASopatiami. Problematyka ta została opisana w pracy ***Craniosynostosis as a clinical and diagnostic problem: molecular pathology and genetic counseling***, (2018, Kutkowska-Kaźmierczak A, Gos M, Obersztyn E. Zał.3, Pkt I B-7), która przybliży zagadnienia związane z patogenezą kraniosynostoz. Ponadto obecność kraniosynostozy u pacjentów z zespołem Noonan stała się inspiracją, do rozpoczęcia badań dotyczących patogenezы zaburzeń zarastania szwów czaszkowych. Od 2017 roku, we współpracy z Poradnią Genetyczną ZGM i Kliniką Chirurgii Dzieci i Młodzieży IMiD, realizujemy projekt własny IMiD pt. *Genetyczne uwarunkowania zespołów wad wrodzonych i dysmorficznych – badania nad etiopatogenezą przedwczesnego zarastania szwów czaszkowych oraz próba korelacji fenotypowo-genotypowej*. W analizie molekularnych przyczyn wystąpienia zaburzeń zarastania szwów czaszkowych wykorzystujemy technikę sekwencjonowania następnej generacji i zaprojektowany przeze mnie panel genów powiązanych z izolowanymi i syndromicznymi postaciami kraniosynostoz. U około 16% (6/38) pacjentów zidentyfikowaliśmy patogenny wariant (geny: *TWIST1*, *TCF12*, *SKI*, *FGFR1*, *FBN1*, *DVL3*, *AHDC1*), który powiązany został z fenotypem obserwowanym u osób badanych.

Jak widać na podstawie przedstawionego powyżej omówienia wyników badań własnych, zespół Noonan jest dużym wyzwaniem diagnostycznym ze względu na zmienną ekspresję choroby, obecność objawów klinicznych wspólnych z innymi jednostkami chorobowymi z grupy RASopatii oraz wysoką heterogenność genetyczną. Stąd też moje badania skupiają się także na opracowaniu

najkorzystniejszego algorytmu toku postępowania diagnostycznego w przypadku podejrzenia choroby z grupy RASopatii. W monografii **Zespół Noonan - etiopatogeneza, dziedziczenie, diagnostyka, różnicowanie kliniczne, poradnictwo genetyczne i leczenie** (2015, Kłapecki J, Gos M, Obersztyn E, Mazurczak T. Zał.3, Pkt I B-10) sugerowanym przez nas rozwiązaniem jest rozpoczęcie badań od analizy genu *PTPN11*, a następnie analiza kolejnych genów w zależności od obecności określonych objawów klinicznych (w przypadku obecności kardiomiopatii przerostowej – analiza *RAF1* i *RIT1*, zaś w przypadkach bez kardiomiopatii – analiza *SOS1*, *KRAS*). Jednak rozwój technik molekularnych, jaki dokonał się w ostatnich latach i szerokie wykorzystanie sekwencjonowania następnej generacji, zarówno w badaniach naukowych, jak i diagnostyce, umożliwił zoptymalizowanie badania chorób monogenowych i zdecydowanie zmienił algorytm postępowania. Zastosowanie panelowego sekwencjonowania celowanego umożliwia jednoczasową analizę wszystkich genów związanych z patogenezą RASopatii, co znacznie przyspiesza weryfikację rozpoznania klinicznego choroby. Panel, który wykorzystywany jest w badaniach prowadzonych w ZGM IMiD, został przeze mnie opracowany w oparciu o dane literaturowe oraz wyniki badań własnych. Ze względu na fakt, że u około 20% pacjentów, u których zidentyfikowaliśmy defekt molekularny za pomocą sekwencjonowania eksomowego, stwierdziliśmy obecność patogennych wariantów w genach związanych z patogenezą innych chorób (m.in. zespół Kabuki, zespół Aarskoga czy zespół Coffina-Sirisa), w których przebiegu występuje niskorosłość, cechy dysmorfii i/lub wady serca, panel nie jest wyłącznie ograniczony do genów związanych z klasycznymi RASopatiami. Fakt, że u chorych z podejrzeniem zespołu Noonan ostatecznie rozpoznano wyżej wymienione zespoły, stanowi potwierdzenie możliwych trudności w diagnostyce klinicznej zespołu. Potwierdza także konieczność uwzględnienia tych zespołów w diagnostyce różnicowej zespołu Noonan, co jest zgodne z aktualnymi rekomendacjami zawartymi w piśmiennictwie medycznym.

Jednym z genów, którego mutacje stosunkowo często stwierdzane są u pacjentów z zespołem Noonan, jest gen *NF1* związany z patogenezą nerwiakowłóknikowości typu I (NF1). Gen koduje neurofibrominę, która jest negatywnym regulatorem szlaku RAS/MAPK, gdyż hamuje aktywność białka RAS i szlaków od niego zależnych. W związku z tym nerwiakowłóknikowość typu I jest przez niektórych zaliczana do grupy RASopatii, chociaż jej objawy kliniczne znacząco różnią się od omawianych już zespołów dysmorficznych. U części pacjentów (ok. 20%) mogą oczywiście wystąpić cechy dysmorfii przypominające zespół Noonan, jeśli są one mocno wyrażone, choroba jest klasyfikowana jako zespół nerwiakowłóknikowość-zespół Noonan (NFNS). Niemniej jednak, dominującym objawem w przebiegu choroby są pojawiające się już we wczesnym dzieciństwie zmiany pigmentacyjne: plamy w kolorze kawy z mlekiem (plamy CAL) i piegowate nakrapianie pach i pachwin. Dodatkowo znamienna jest tendencja do rozwoju guzków Lischa (hamartoma), nerwiakowłókników skórnych i splotowych, glejaków nerwu wzrokowego oraz występowania charakterystycznych zmian kostnych. Obserwowane są także specyficzne zaburzenia behawioralne: zaburzenia koncentracji i uwagi oraz cechy nadpobudliwości psychoruchowej, a także opóźnienie rozwoju intelektualnego. Wady rozwojowe obserwowane u pacjentów z NF1 nie wynikają jedynie z zaburzonej aktywności białka RAS. Neurofibromina jest także zaangażowana w regulację transdukcji sygnału z udziałem szlaku cAMP/PKA i rearanżacji cytoszkieletu - procesów istotnych dla rozwoju i funkcjonowania układu nerwowego. Odgrywa także ważną rolę w transporcie wewnątrzkomórkowym m.in. melanosomów, odpowiedzialnych za produkcję melaniny, co zostało omówione w pracy: **Neurofibromina – budowa i funkcje białka w kontekście patogenezы nerwiakowłóknikowości typu I** (2015, Abramowicz A, Gos M. Zał.3, Pkt I B-8).

W związku rolą, jaką produkt genu *NF1* odgrywa w regulacji szlaku RAS/MAPK, nerwiakowłóknikowatość typu I może być postrzegana jako element pewnego kontinuum obejmującego spektrum zaburzeń o odmiennym obrazie klinicznym, ale zależnych od wspólnego szlaku sygnałowego. W ten sposób można spojrzeć na zespół Noonan – zespół wad wrodzonych z cechami dysmorfii, nerwiakowłóknikowatość typu I, które łączy forma pośrednia, jaką jest zespół nerwiakowłóknikowatość-zespół Noonan (NFNS). Dlatego też od momentu włączenia się w badania dotyczące patogenezy RASopatii, uważałam że należy je poszerzyć o badania podłoża molekularnego *NF1*. Badania dotyczące nerwiakowłóknikowatości typu I rozpoczęłam w 2014 roku w ramach projektu własnego IMiD: *Nerwiakowłóknikowatość typu I – podłoże molekularne choroby. Ocena korelacji pomiędzy obrazem klinicznym choroby a genotypem pacjenta*, który kontynuowałam w kolejnych latach (projekt: *Nerwiakowłóknikowatość typu I – podłoże molekularne choroby oraz funkcjonalna ocena mutacji o charakterze zmiany sensu*; 2016-2017).

Prace obejmowały głównie opracowanie metodyki analizy genu *NF1* oraz identyfikację defektu molekularnego u pacjentów z klinicznym rozpoznaniem *NF1* i NFNS. Strategia (obejmująca sekwencjonowanie RNA/cDNA i/lub genomowego DNA), którą stosowaliśmy w naszych badaniach, została omówiona w pracy ***Neurofibromin in neurofibromatosis type 1 - mutations in NF1 gene as a cause of disease***, (2014, Abramowicz A, Gos M; Zał. 3, Pkt. II D-11, publikacja nie wchodząca w skład osiągnięcia naukowego). Należy podkreślić, że znacząca część wariantów identyfikowanych w genie *NF1* to mutacje zaburzające składanie pierwotnego transkryptu (pre-mRNA). Większość z nich znajduje się w obrębie konserwowanych ewolucyjnie sekwencji miejsc regulatorowych dla procesu składania RNA (miejsca donorowe, akceptorowe, miejsce rozgałęzienia), co oznacza, że ich identyfikacja będzie możliwa w trakcie analizy na poziomie DNA. Nie zmienia to faktu, że wpływ konkretnego wariantu zidentyfikowanego w trakcie analizy DNA, potencjalnie zaburzającego składanie pre-mRNA, wymaga potwierdzenia funkcjonalnego, na co zwróciliśmy uwagę w pracy: ***Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation*** (2018, Abramowicz A, Gos M. Zał.3, Pkt I B-9). W rutynowych badaniach diagnostycznych analiza funkcjonalna jest zazwyczaj zastępowana analizą bioinformatyczną *in silico* z wykorzystaniem odpowiednich programów predykcyjnych np. Human Splicing Finder. Jest to szczególnie istotne w przypadku mutacji eksonowych, które, mimo że interpretowane są jako zmiany synonimiczne, mutacje typu missens lub nonsens, to w rzeczywistości powodują zaburzenia składania transkryptu (w badanie grupie zidentyfikowano 11 takich mutacji).

Przyczyną opisanych powyżej zaburzeń rozwojowych z grupy RASopatii jest obecność mutacji w genach kodujących białka szlaku RAS/MAPK. Warto jednak wspomnieć, że przyczyną zaburzeń aktywności tego szlaku może być także obecność patogenicznego wariantu w genie, którego produkt białkowy nie jest elementem lub regulatorem tej ścieżki sygnałowej. Efekt fenotypowy takiej mutacji może być podobny, zaś przykładem to doskonale obrazującym jest wspomniany już wcześniej zespół Kabuki, który uwzględniany jest w diagnostyce różnicowej zespołu Noonan. Przyczyną choroby są głównie mutacje w genach *KMT2D* i *KDM6A*, kodujących tzw. regulatory epigenetyczne, w tym przypadku odpowiedzialne za modyfikacje kowalencyjne białek histonowych (omówione szerzej w rozdziale pt. ***Epigenetyka***² w *Genetyka medyczna i molekularna*, 2017, Gos M. Zał. 3, Pkt. II D-1, publikacja niewchodząca w skład osiągnięcia naukowego). Jak wykazały badania prowadzone na modelu *Danio rerio* uszkodzenie jednego z genów związanych z patogenezą zespołu Kabuki, powoduje

² Rozdział jest pierwszym tak obszernym polskojęzycznym omówieniem zagadnień związanych ze zjawiskiem rodzicielskiego piętnowania genomowego i regulacją epigenetyczną w kontekście chorób dziedzicznych człowieka.

hyperaktywację białek MEK i kolejnych kinaz efektorowych szlaku, co prowadzi do wystąpienia specyficznych zaburzeń rozwojowych [8].

* * *

Jak widać z powyższego omówienia moich głównych zainteresowań naukowych, zaburzenia rozwojowe będące efektem podwyższonej aktywności szlaku sygnałowego RAS/MAPK, cechuje wysoka heterogenność genetyczna i kliniczna. Prowadzone przeze mnie badania umożliwiły identyfikację u polskich pacjentów z zespołem Noonan mutacji w genach *RIT1* i *LZTR1*, które w ostatnich latach zostały powiązane z patogenezą choroby. Potwierdzają także zasadność wdrożenia badań molekularnych w przypadkach klinicznie wątpliwych, co umożliwi ustalenie ostatecznego rozpoznania klinicznego. Opisane trudności w diagnostyce klinicznej mogą wynikać z obecności cech wspólnych dla chorób z grupy RASopatii lub innych jednostek chorobowych, które uwzględnia się w diagnostyce różnicowej zespołu Noonan czy pojawienia się u pacjentów cech niespecyficznych takich jak np. kraniosynostoza. Dlatego też wdrożenie w codziennej praktyce odpowiedniego algorytmu postępowania diagnostycznego w chorobach z grupy RASopatii, w tym nerwiakowłókniaowości typu I, przekłada się to na sposób postępowania z małymi pacjentami, z których wielu wymaga wielospecjalistycznej opieki medycznej, podczas gdy stosowane leczenie ma charakter objawowy. Zrozumienie patogenezы zaburzeń rozwojowych, uwzględniające poznanie genetycznych przyczyn wystąpienia choroby, jest kluczowe dla wyjaśnienia mechanizmów prowadzących do jej rozwoju i w przyszłości może umożliwić rozwój terapii spersonalizowanych czy leczenia celowanego, tak jak ma to miejsce w przypadku wrodzonych wad metabolizmu lub chorób nerwowo-mięśniowych. Dla pacjentów z chorobami z grupy RASopatii nadzieją mogą być inhibitory szlaku RAS/MAPK z powodzeniem stosowane już w terapii nowotworów, jednak w przypadku zaburzeń rozwojowych problem stanowi moment ich podania, gdyż ewentualną terapię należałoby rozpocząć już w trakcie rozwoju embrionalnego.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

Swoją pracę naukową rozpoczęłam w Zakładzie Biologii Komórki w Centrum Onkologii – Instytucie im. M. Skłodowskiej-Curie (COI) w Warszawie. Na bazie wcześniejszych doświadczeń z zakresu genetyki molekularnej, włączyłam się w badania w ramach zadania wieloletniego COI: *Opracowanie nowych technik diagnostycznych z wykorzystaniem narzędzi cytogenetycznych i molekularnych w tym genomiki i proteomiki. Poszukiwanie nowych molekularnych i immunohistochemicznych markerów prognostycznych.* Mój główny projekt dotyczył analizy polimorfizmów wybranych genów jako potencjalnych czynników związanych z ryzykiem rozwoju raka prostaty oraz odpowiedzią na leczenie hormonalne. Badania były realizowane w ramach grantu własnego *Związek polimorfizmów genowych z ryzykiem powstania raka prostaty, jego obrazem klinicznym i odpowiedzią na leczenie hormonalne* we współpracy z Kliniką Nowotworów Układu Moczowego COI. Obejmowały one głównie analizę polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (SNP) i sekwencji mikrosatelitarnych (STR) w wybranych genach kodujących białka związane z metabolizmem androgenów, metabolizmem ksenobiotyków i naprawą DNA u pacjentów z nowotworem stercza w różnym stadium zaawansowania oraz ich korelację z ryzykiem zachorowania na raka prostaty.

Drugi aspekt mojej działalności z zakresu onkogenetyki dotyczył zmian molekularnych w białaczkach i chłoniakach. Przy ścisłej współpracy z Samodzielną Pracownią Cytogenetyki (prof. B. Pieńskowska-Grela), Pracownią Cytometrii Przepływowej Zakładu Patologii (dr G. Rymkiewicz) oraz Kliniką Nowotworów Układu Chłonnego (kierownik prof. J. Walewski), opracowaliśmy algorytm postępowania diagnostycznego przy podejrzeniu nowotworu układu chłonnego z uwzględnieniem

metod biologii molekularnej, cytogenetyki i cytometrii przepływowej. W ramach prowadzonych prac wdrożyliśmy do badań przewlekłej białaczki limfocytowej / chłoniaka limfocytarnego (CLL/SLL) ocenę klonalności i stopnia zmutowania części zmiennej genu kodującego łańcuch ciężki immunoglobulin (IGHV). Techniki przez nas stosowane zostały omówione w pracy poglądowej: **Metody molekularne w ocenie czynników rokowniczych w przewlekłej białaczce limfocytowej/chłoniaku limfocytarnym (CLL/SLL)** (2008, Gos M, Grygalewicz B, Pieńkowska-Grela B, Małecki M. Zał.3, Pkt. II D-18). Warto dodać, że wprowadzenie analizy *locus IGHV* umożliwiło nasz udział w europejskim badaniu klinicznym non-profit HOVON68, zaś wyniki przeprowadzonych badań w powiązaniu z wykonaną później analizą zmian liczby kopii w przewlekłej białaczce limfocytowej zostały omówione w publikacji: **Monoallelic and biallelic deletions of 13q14 in a group of CLL/SLL patients investigated by CGH Haematological Cancer and SNP array (8x60K)** (2016, Grygalewicz B, Woroniecka R, Rygiel J, Borkowska K, Rzepecka I, Łukasik M, Budziłowska A, Rymkiewicz G, Błachnio K, Nowakowska B, Bartnik M, Gos M, Pieńkowska-Grela B. Zał. 3, Pkt. II A-2).

W ramach prowadzonych badań uczestniczyłam także w opracowaniu metody oceny ekspresji cykliny D1 (oraz innych cyklin z grupy D) na poziomie transkryptu u pacjentów z podejrzeniem chłoniaka z komórek płaszczka (MCL) oraz oceny klonalności populacji komórkowych z wykorzystaniem analizy *locus IGH*, *TCRG* i *TCRB* (technika multiplex-PCR) w materiale pobranym od pacjentów z podejrzeniem chłoniaków B- i T-komórkowych. Wyniki badań z moim udziałem stanowiły element publikacji wieloautorskich omawiających znaczenie stosowanych metod w kontekście rozpoznania konkretnych nowotworów układu chłonnego (**Unusual cyclin D1 positive marginal zone lymphoma of mediastinum**, 2006, Rymkiewicz G, Ptaszyński K, Walewski J, Błachnio K, Swoboda P, Gos M, Paszkiewicz-Kozik E, Woroniecka R, Pieńkowska-Grela B, Czarnocka M, Janik P. Zał. 3, Pkt. II A-19; **Mantle cell lymphoma presenting with paraproteinemia**, 2005, Rymkiewicz G, Gos M, Błachnio K, Woroniecka R, Swoboda P, Pieńkowska-Grela B, Kulińska M, Borawska A, Janik P, Walewski J. Zał. 3, Pkt. II A-20; **Znaczenie cytometrii przepływowej w diagnostyce białaczki z dużych ziarnistych limfocytów T**, 2009, Błachnio K, Rymkiewicz G, Gos M, Sadowski T, Borawska A, Ptaszyński K. Zał. 3, Pkt. II D-5).

W Centrum Onkologii uczestniczyłam także w projektach dotyczących szeroko pojętej biologii komórki i podstaw procesu nowotworzenia. Realizowane prace dotyczyły m.in.:

- 1) mechanizmu inhibicji kontaktowej – na potrzeby tego projektu wdrożyłam w Zakładzie Biologii Komórki technikę analizy ekspresji genów z wykorzystaniem makromacierzy Atlas™ (Clontech), które wykorzystywałam do badania różnic pomiędzy komórkami hodowanymi w odpowiednio dobranych warunkach; wyniki badań potwierdzające różnice pomiędzy komórkami zahamowanymi we wzroście na skutek inhibicji kontaktowej i z powodu braku substancji odżywczych zostały omówione w publikacji: **Cellular quiescence induced by contact inhibition or serum withdrawal in C3H10T1/2 cells** (2005, Gos M, Miloszevska J, Swoboda P, Trembacz H, Skierski J, Janik P. Zał. 3, Pkt. II A-14);
- 2) regulacji proliferacji komórek pod wpływem czynników wzrostowych – model do badań stanowiły limfocyty T, które poddane były działaniu interleukiny 2; badania realizowane były w ramach projektu MNiSW: *Ekspresja genów w zależnych od interleukiny 2 (IL-2) normalnych i spontanicznie immortalizowanych limfocytach T po pozbawieniu ich czynnika wzrostowego, zaś moją rolą było opracowanie metody analizy ekspresji wybranych genów z wykorzystaniem techniki PCR w czasie rzeczywistym. Wyniki naszych badań zostały przedstawione w publikacji oryginalnej: **Molecular signature of cell cycle exit induced in human T lymphoblasts by IL-2 withdrawal** (2009, Chechlinska*

M, Siwicki JK, Gos M, Oczko-Wojciechowska M, Jarzab M, Pfeifer A, Jarzab B, Steffen J. Zał. 3, Pkt. II A-11);

3) mechanizmów przerzutowania komórek nowotworowych z uwzględnieniem roli przejścia epithelialno-mezenchymalnego. W ramach tych badań analizowano zmiany ekspresji genów oraz właściwości biologiczne (zdolność do migracji i inwazji, krzywa wzrostowa) komórek zdolnych do inwazji z wykorzystaniem techniki Real-Time PCR oraz makromacierzy RNA, a część wyników została zaprezentowana w pracy: ***TrkB expression level correlates with metastatic properties of L1 mouse sarcoma cells cultured in non-adhesive conditions.*** (2013, Miłoszewska J, Przybyszewska M, Gos M, Swoboda P, Trembacz H. Zał. 3, Pkt. II A-6).

W 2009 rozpoczęłam pracę w Zakładzie Genetyki Medycznej Instytutu Matki i Dziecka, w którym od początku zajmowałam się badaniami dotyczącymi podłoża molekularnego chorób genetycznie uwarunkowanych. W latach 2009-2010 prowadziłam badania molekularne (gen *CFTR*) realizowane na potrzeby Programu Badań Przesiewowych Noworodków. W 2010 objęłam funkcję kierownika Pracowni Genetyki Rozwoju, zaś profil jej działalności odpowiada moim zainteresowaniom dotyczącym szeroko pojętym zaburzeniom rozwoju. Poza zespołami wad wrodzonych, których patogenezą związana jest z aktywnością szlaku RAS/MAPK, prowadzę i uczestniczę w badaniach dotyczących zaburzeń neurorozwojowych, w tym niepełnosprawności intelektualnej, wczesnodziecięcych encefalopatii padaczkowych i chorób nerwowo-mięśniowych.

W Pracowni Genetyki Rozwoju prowadzone są badania dotyczące zespołu łamliwego chromosomu X (zespół FraX, FXS), który jest najczęstszą monogenową przyczyną niepełnosprawności intelektualnej i zaburzeń ze spektrum autyzmu. Obserwowane objawy kliniczne, omówione dokładniej w publikacji ***Zespół łamliwego chromosomu X i choroby FMR1-zależne – objawy kliniczne, epidemiologia i podłoże molekularne choroby*** (2018, Landowska A, Rzońca S, Bal J, Gos M. Zał. 3, Pkt. II D-3) są wynikiem zaburzeń procesu synaptogenezy, których przyczyną jest brak lub obniżona ekspresja białka FMRP (ang. fragile X mental retardation protein). Białko to jest odpowiedzialne przede wszystkim za regulację (głównie represję) translacji specyficznych RNA, których produkty białkowe są zaangażowane m.in. w reorganizację cytoszkieletu i przekazywanie sygnału w komórkach (m.in. szlak kinaz MAP, szlaki zależne od Ca^{2+}) kluczowych dla rozwoju komórek układu nerwowego i wykształcenia prawidłowego wzorca przekazywania nerwowego (***Rola białka FMRP w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu oraz patogenezie zespołu łamliwego chromosomu X***, 2012, Rzońca SO, Gos M, Zał. 3, Pkt. II A-21).

Zespół łamliwego chromosomu X jest jedną z modelowych chorób dziedzicznych człowieka. Jest nie tylko przykładem choroby dziedziczącej się w sposób sprzężony z płcią, lecz również takiej, która spowodowana jest obecnością mutacji dynamicznej. W moich wykładach upowszechniających wiedzę dotyczącą chorób genetycznie uwarunkowanych wymieniam ją także jako przykład zaburzeń epigenetycznych dotyczących pojedynczego genu (omówione w: ***Epigenetic mechanisms of gene expression regulation in neurological diseases***, 2013, Gos M, Zał.3, Pkt I B-5). W zespole FraX dochodzi do ekspansji trójki nukleotydowej CGG zlokalizowanej w niekodującej części 5' (5' UTR) genu *FMR1* do ponad 200 powtórzeń. Prowadzi to do metylacji regionu 5'UTR i promotorowego, a w efekcie do zablokowania transkrypcji genu, co w przypadku pacjentów płci męskiej skutkuje zupełnym brakiem białka.

Zaburzenia neurorozwojowe stanowią istotny problem kliniczny i społeczny, dlatego też są one jednym z głównych tematów badawczych ośrodków na całym świecie. Badania patogenezy chorób

neurorozwojowych, w tym zespołu łamliwego chromosomu X, są również od dawna prowadzone w ZGM IMiD, a Zakład ze względu na zdobyte doświadczenie od wielu lat pełni rolę ośrodka referencyjnego w zakresie analizy przyczyn wystąpienia tej choroby. Podsumowanie tych wieloletnich badań zostało zawarte w publikacjach **Zespół łamliwego chromosomu X i choroby FMR1-zależne – postępowanie diagnostyczne na podstawie doświadczeń własnych** (2018, Landowska A, Rzońca S, Bal J, Gos M, Zał. 3, Pkt. II D-2), która przedstawia ocenę efektywności różnych technik badawczych i omówienie algorytmu postępowania diagnostycznego w przypadku podejrzenia FXS, i **Towards a Better Molecular Diagnosis of FMR1-Related Disorders-A Multiyear Experience from a Reference Lab** (2016, Rzońca SO, Gos M, Szopa D, Sielska-Rotblum D, Landowska A, Szpecht-Potocka A, Milewski M, Czekajska J, Abramowicz A, Obersztyn E, Maciejko D, Mazurczak T, Bal J, Zał. 3, Pkt. II A-3), która zawiera podsumowanie wyników badań własnych.

Ze względu na fakt, że mutacja w genie *FMR1* identyfikowana jest u niewielkiej części pacjentów z zaburzeniami neurorozwojowymi, wśród projektów naukowych realizowanych w Pracowni i Zakładzie, znajdują się między innymi takie, których celem jest wyjaśnienie podłoża molekularnego niepełnosprawności intelektualnej: pierwotnej, występującej rodzinnie (*Próba identyfikacji i określenia zmian funkcjonalnych genów związanych ze sprawnością intelektualną i poznawczą*) czy wtórnej, występującej jako następstwo napadów padaczkowych (*Charakterystyka kliniczna i molekularna padaczek zespołów padaczkowych z grupy niemowlęcych i wczesnodziecięcych encefalopatii padaczkowych rodzinie występującej pierwotnej*). Umożliwiły one wyjaśnienie przyczyn wystąpienia zaburzeń rozwojowych u części pacjentów, co przełożyło się na możliwość zapewnienia im optymalnej opieki medycznej, a także, jeśli jest to możliwe, wdrożenie terapii personalizowanych.

W tym miejscu należy wspomnieć, że przyczyną wystąpienia niepełnosprawności intelektualnej czy napadów padaczkowych mogą być także zaburzenia epigenetyczne, przede wszystkim zaburzenia rodzicielskiego piętnowania genomowego (tzw. imprintingu). Problemem regulacji epigenetycznej zainteresowałam się podczas realizacji projektu *Badanie podłoża molekularnego Zespołu Angelmana (AS). Oligogeniczno-epigenetyczna hipoteza (MEGDI) patogenezy AS*. W ramach prowadzonego projektu odpowiedzialna byłam za wdrożenie techniki MS-MLPA do badania chorób związanych z defektem piętnowania genomowego oraz opracowanie techniki badania *locus* AS-SRO pod kątem obecności haplotypu H-AS3, sprzyjającego powstawaniu zaburzeń piętnowania. Celem projektu była także identyfikacja przyczyny wystąpienia choroby u pacjentów z zespołem Angelmana, z wykluczonym defektem piętnowania genomowego. Ze względu na ograniczone wówczas możliwości techniczne skoncentrowaliśmy się głównie na badaniach genów *UBE3A*, *MECP2* i *CDKL5*. Dwa ostatnie kodują białka związane z regulacją epigenetyczną: białko rozpoznające metylowane sekwencje DNA i kinazę regulującą aktywność metylotransferazy DNA typu I, i są związane z patologią zespołu Retta o podobnym do zespołu Angelmana spektrum objawów klinicznych. W badanej grupie mutacje zidentyfikowano u pojedynczych pacjentów (*UBE3A* – 4, *MECP2* – 4), w tym u pacjentki z padaczką i opóźnieniem rozwoju psychoruchowego stwierdzono delecję eksonu 4 genu *CDKL5*. Opis pacjentki stanowi część publikacji **Early-onset seizures due to mosaic exonic deletions of CDKL5 in a male and two females** (2011, Bartnik M, Derwińska K, Gos M, Obersztyn E, Kołodziejka KE, Erez A, Szpecht-Potocka A, Fang P, Terczyńska I, Mierzewska H, Lohr NJ, Bellus GA, Reimschisel T, Bocian E, Mazurczak T, Cheung SW, Stankiewicz P. Zał. 3, Pkt. II A-9).

Moje zainteresowanie problemem zaburzeń neurorozwojowych obejmuje także badania dotyczące chorób nerwowo-mięśniowych, w tym klasycznej postaci rdzeniowego zaniku mięśni (SMA).

Choroba ta jest zazwyczaj opisywana jako choroba neurodegeneracyjna ze względu na obserwowany zanik neuronów ruchowych rdzenia kręgowego. Jednak obecnie wiadomo, że wystąpienie choroby jest efektem nieprawidłowego rozwoju systemu przekąźnictwa nerwowo-mięśniowego wynikającego z nieprawidłowej budowy i funkcjonowania połączeń nerwowo-mięśniowych. Z patogenezą choroby związane są dwa geny: *SMN1*, którego mutacje w obu kopiach warunkują wystąpienie choroby, oraz jego homolog *SMN2* (geny różnią się pięcioma nukleotydami), którego obecność modyfikuje przebieg choroby. Produkt genu – białko SMN (ang. survival motor neuron), zaangażowany jest w kluczowe procesy komórkowe m.in. biogenezę rybonukleoprotein (snRNP i snoRNP) wchodzących w skład kompleksów odpowiedzialnych za składanie pre-mRNA i posttranskrypcyjne modyfikacje niekodującego RNA, oraz wewnątrzkomórkowy transport mRNA [9].

Rdzeniowy zanik mięśni dziedziczy się w sposób autosomalny recesywny - w większości przypadków (95%) stwierdzana jest obecność homozygotycznej delecji eksonu 7 genu *SMN1*. W pozostałych, rzadkich przypadkach, stwierdza się heterozygotyczną delecję eksonu 7 i mutację punktową w drugim allelu genu *SMN1*. Brak danych dotyczących częstości występowania mutacji punktowych w populacji polskich pacjentów z SMA skłonił nas (współpraca z dr M. Jędrzejowską z Zespołu Nerwowo-Mięśniowego Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej) do podjęcia badań w tym zakresie w ramach projektu *Badanie podłoża molekularnego rdzeniowego zaniku mięśni w grupie pacjentów bez homozygotycznej utraty genu SMN1. Poszukiwanie mutacji punktowych w genie SMN1 i IGHMBP2*. Badaniami objęto grupę ponad 600 pacjentów, u których we wcześniejszych badaniach wykluczono homozygotyczną delecję eksonu 7 genu *SMN1*. Podsumowanie uzyskanych wyników stanowi praca oryginalna ***Novel point mutations in survival motor neuron 1 gene expand the spectrum of phenotypes observed in spinal muscular atrophy patients*** (2014, Jędrzejowska M, Gos M, Zimowski JG, Kostera-Pruszczyk A, Ryniewicz B, Hausmanowa-Petrusewicz I. Zał. 3, Pkt. II A-4). Jedynie u 2.97% (18/606) badanych pacjentów stwierdzono współwystępowanie delecji eksonu 7 i mutacji punktowej. Analiza kliniczna wykazała, że mutacje zaburzające ramkę odczytu i powodujące powstanie skróconej formy białka (lub jego brak z powodu przedwczesnej degradacji transkryptu) były obecne u pacjentów z typem I SMA (średni wiek wystąpienia objawów klinicznych: 5 tygodni), zaś u pacjentów z typem III choroby (średni wiek wystąpienia objawów klinicznych: 4,9 lat) występowały mutacje typu missens. Obserwacja ta umożliwia ukierunkowanie ewentualnych badań molekularnych w przypadku podejrzenia łagodniejszej postaci rdzeniowego zaniku mięśni.

Z uwagi na fakt, że przeprowadzone przez nas badania umożliwiły wyjaśnienie przyczyny wystąpienia rdzeniowego zaniku mięśni jedynie u niewielkiej części pacjentów, naturalną konsekwencją było podjęcie w ramach prowadzonych prac naukowych tematyki wiotkości obwodowej i osłabienia siły mięśniowej u niemowląt oraz przyczyn ich wystąpienia. Badania realizowane są w ramach projektu: *Zespół dziecka wiotkiego - poszukiwanie nowych czynników genetycznych związanych z etiopatogenezą choroby, ze szczególnym uwzględnieniem chorób nerwowo-mięśniowych*. Do chwili obecnej do projektu włączonych zostało 130 pacjentów z rozpoznaniem tzw. zespołu dziecka wiotkiego, dla których przeprowadzono analizę celowaną lub sekwencjonowanie eksomowe. Defekt molekularny został zidentyfikowany dla 32,9% badanych pacjentów. Najliczniejszą grupę stanowili pacjenci z mutacjami w genie *ACTA1* (6 pacjentów), *LMNA* (6) i *RYR1* (7), których produkty białkowe niezbędne są dla prawidłowego różnicowania się komórek mięśniowych i rozwoju mięśni. U pojedynczych pacjentów identyfikowano mutacje w genach związanych z patogenezą innych chorób nerwowo-mięśniowych, zaś przykładowe korelacje genotypowo-fenotypowe zostały przedstawione w artykułach: ***Novel Col12A1 variant expands the clinical picture of congenital myopathies with***

extracellular matrix defects (2017, Punetha J, Kesari A, Hoffman EP, Gos M, Kamińska A, Kostera-Pruszczyk A, Hausmanowa-Petrusewicz I, Hu Y, Zou Y, Bönnemann CG, Jędrzejowska M. Zał. 3, Pkt II A-16) i **The remarkable phenotypic variability of the p.Arg269His variant in the TRPV4 gene** (2019, Jędrzejowska M, Dębek E, Kowalczyk B, Halat P, Kostera-Pruszczyk A, Ciara E, Jezela-Stanek A, Rydzanicz M, Gasperowicz P, Gos M. Zał. 3, Pkt II A-15).

Ważnym efektem prowadzonych przeze mnie badań jest możliwość opracowania na podstawie uzyskanych danych algorytmów postępowania, które wykorzystywane są w codziennej praktyce klinicznej i diagnostycznej. Na potrzeby badań naukowych przygotowywane są także nowe metody i techniki, które po pozytywnym zweryfikowaniu, mogą zostać wdrożone jako element procedur diagnostycznych. Widać to wyraźnie w ostatnich latach, w których trakcie standardem badań patogenezy chorób o podłożu genetycznym stały się techniki wysokoprzepustowe: porównawcza hybrydyzacja genomowa do mikromacierzy czy sekwencjonowanie następnej generacji, które stosowane są już w codziennej praktyce diagnostycznej.

Moje praktyczne zainteresowania skupiają się przede wszystkim na możliwości wykorzystania sekwencjonowania następnej generacji w badaniach patogenezy molekularnej zaburzeń rozwojowych. Warto podkreślić, że technologie wysokoprzepustowe nie zawsze są skuteczne w określeniu przyczyny wystąpienia zaburzeń rozwojowych. Szacuje się, że sekwencjonowanie eksomowe umożliwi identyfikację defektu molekularnego u około 25% (22-31%) badanych pacjentów. Skuteczność można zwiększyć wykonując dodatkowo analizę dla innych objawowych członków rodziny lub rodziców probanta, jak również odnosząc wyniki do danych populacyjnych. U części pacjentów jednak w dalszym ciągu nie uda się zidentyfikować przyczyny wystąpienia zaburzeń rozwojowych. Również rozszerzenie badań molekularnych i wykonanie analizy genomu, może nie przynieść oczekiwanych rezultatów, jeśli nie będziemy w stanie wykazać związku przyczynowo-skutkowego dla zidentyfikowanych defektów molekularnych. Stąd też ważna jest współpraca z lekarzem klinicystą, który dzięki wnikliwej analizie objawów klinicznych, będzie mógł powiązać zidentyfikowane warianty z fenotypem osoby badanej. Należy również podkreślić znaczenie oceny danych rodowodowych, wywiadu rodzinnego, przebiegu ciąży i okresu okołoporodowego z uwzględnieniem ewentualnego wpływu czynników środowiskowych na wystąpienie u chorego patologii klinicznej. Mimo, że czasem mówi się o tzw. odwrotnej genetyce czy odwrotnej dysmorfologii, to jednak rola lekarza, zwłaszcza genetyka klinicznego w ustaleniu ostatecznego rozpoznania klinicznego jest nie do przecenienia.

Bibliografia:

- 1) Piotrowicz M, Chilarska T, Jakubowski L. Wrodzone wady rozwojowe w: Genetyka medyczna – podręcznik dla studentów, red. Drewna G, Ferenc T. Elsevier Urban & Partner, Wrocław, 2011
- 2) Wady wrodzone u ludzi w: Embriologia i wady wrodzone. Od zapłodnienia do urodzenia, red. Moore K, Persaud TVN, Torchia MG. Elsevier Urban & Partner, Wrocław, 2013
- 3) Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshika T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T, Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y. Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome. *Am J Hum Genet.* 2013; 93(1):173-80.
- 4) Kouz K, Lisowski C, Spranger S, Mitter D, Riess A, Lopez-Gonzalez V, Lüttgen, S, Aydin H, von Deimling F, Evers C, Hahn A, Hempel M, Issa U, Kahlert AK, Lieb A, Villavicencio-Lorini P, Ballesta-Martinez MJ, Nampoothiri S, Ovens-Raeder A, Puchmajerová A, Satanovskij R, Seidel

- H, Unkelbach S, Zabel B, Kutsche K, Zenker M. Genotype and phenotype in patients with Noonan syndrome and a RIT1 mutation. *Genet Med.* 2016;18(12):1226-1234.
- 5) Motta M, Fidan M, Bellacchio E, Pantaleoni F, Schneider-Heieck K, Coppola S, Borck G, Salviati L, Zenker M, Cirstea IC, Tartaglia M. Dominant Noonan syndrome-causing LZTR1 mutations specifically affect the kelch domain substrate-recognition surface and enhance RAS-MAPK signaling. *Hum Mol Genet.* 2018 Nov 27. doi: 10.1093/hmg/ddy412.
- 6) Calcagni G, Limongelli G, D'Ambrosio A, Gesualdo F, Digilio MC, Baban A, Albanese SB, Versacci P, De Luca E, Ferrero GB, Baldassarre G, Agnoletti G, Banaudi E, Marek J, Kaski JP, Tuo G, Russo MG, Pacileo G, Milanese O, Messina D, Marasini M, Cairello F, Formigari R, Brighenti M, Dallapiccola B, Tartaglia M, Marino B. Cardiac defects, morbidity and mortality in patients affected by RASopathies. CARNET study results. *Int J Cardiol.* 2017; 245:92-98.
- 7) Croonen EA, Nillesen WM, Stuurman KE, Oudesluijs G, van de Laar IM, Martens L, Ockeloen C, Mathijssen IB, Schepens M, Ruitkamp-Versteeg M, Scheffer H, Faas BH, van der Burgt I, Yntema HG. Prenatal diagnostic testing of the Noonan syndrome genes in fetuses with abnormal ultrasound findings. *Eur J Hum Genet.* 2013 Sep;21(9):936-42.
- 8) Tsai IC, McKnight K, McKinstry SU, Maynard AT, Tan PL, Golzio C, White CT, Price DJ, Davis EE, Amrine-Madsen H, Katsanis N. Small molecule inhibition of RAS/MAPK signaling ameliorates developmental pathologies of Kabuki Syndrome. *Sci Rep.* 2018 Jul 17;8(1):10779.
- 9) Singh RN, Howell MD, Ottesen EW, Singh NN. Diverse role of survival motor neuron protein. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech.* 2017; 1860(3):299-315.

